

ENKAPSULASI PIRAZINAMID MENGGUNAKAN ALGINAT-KITOSAN DENGAN VARIASI KONSENTRASI PENAMBAHAN SURFAKTAN TWEEN 80

ENCAPSULATION OF PYRAZINAMIDE USED BY ALGINATE-CHITOSAN WITH VARIATION CONCENTRATION OF ADDING SURFACTANT TWEEN 80

Asri Rahmi Trisnawati* dan Sari Edi Cahyaningrum

Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya. Jl. Ketintang, Surabaya 60231

*email: asrirahmi@rocketmail.com

Abstrak. Tujuan penelitian ini, yaitu untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi surfaktan tween 80 terhadap efisiensi enkapsulasi dan karakter fisika dan kimia dari enkapsulasi pirazinamid menggunakan alginat-kitosan. Metode enkapsulasi pirazinamid yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu metode gelasi ionotropik dengan Ca^{2+} sebagai agen pengikat silang. Dalam penelitian ini digunakan penyalutan berganda, sehingga dapat meningkatkan efisiensi enkapsulasi. Hasil efisiensi enkapsulasi tertinggi selanjutnya diuji karakter fisika dan kimia, yang meliputi uji gugus fungsional menggunakan FTIR dan uji ukuran partikel menggunakan PSA. Hasil yang diperoleh menunjukkan persentase efisiensi enkapsulasi tanpa penambahan tween 80 mencapai 62,08%, sedangkan hasil efisiensi enkapsulasi tertinggi diperoleh pada penambahan tween 80 dengan konsentrasi 3%, yaitu mencapai 79,10%. Dari hasil PSA menunjukkan partikel berukuran nano sebesar 8,5%, sedangkan yang berukuran mikro sebesar 91,5%. Jadi, dapat disimpulkan bahwa penambahan surfaktan tween 80 dapat meningkatkan efisiensi enkapsulasi dan mempengaruhi ukuran partikel, tetapi tidak mempengaruhi karakter kimia enkapsulasi pirazinamid menggunakan alginat-kitosan.

Kata kunci: Enkapsulasi, alginat, kitosan, surfaktan, tween 80.

Abstract. The purpose of this study was to know the effect of surfactant tween 80 concentration on the encapsulation efficiency and physical and chemical character of encapsulation of pyrazinamide using alginate-chitosan. Encapsulation of pyrazinamide in this study were prepared by ionotropic gelation method with Ca^{2+} as a cross linking agent. The multiple coating was used in this study to improve the efficiency of encapsulation. The highest encapsulation efficiency results were further tested the character of physics and chemistry including testing functional groups using FTIR and particle size using the PSA test. The results obtained showed that the percentage of encapsulation efficiency without tween 80 reached 62.08%, while the highest encapsulation efficiency reached 79,10% by adding tween 80 3%. From the results of the PSA showed 8,5% nano-sized particles and 91,5% micro-sized particles. Thus, it could be concluded that the addition of surfactant tween 80 could increase the encapsulation efficiency and affected the particle size, but not the chemical property.

Keywords: Encapsulation, alginate, chitosan, surfactant, tween 80.

PENDAHULUAN

Tuberkulosis (TBC) adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang bersifat sistemik, yang dapat tumbuh pada hampir semua organ tubuh, tetapi paling banyak terdapat di paru-paru yang biasanya merupakan bagian infeksi utama dari bakteri *mycobacterium tuberculosis*. Penyakit TBC kebanyakan menyerang pasien pada usia

produktif dan dapat menyebabkan kematian. Penanganan penyakit TBC memerlukan waktu yang relatif lama, yaitu sekitar 6-9 bulan dan harus teratur dalam mengonsumsi obat, sehingga memungkinkan efek toksik yang masuk ke dalam tubuh semakin banyak [1].

Masa terapi penyakit TBC yang terlalu lama, juga menyebabkan ketidakpatuhan pasien menjadi meningkat,

sehingga terapi penyakit TBC sering mengalami kegagalan [1]. Kemudian, dikembangkan formula baru yang dikenal dengan sistem *Sustained Release (SR)*, atau pelepasan berkelanjutan untuk meningkatkan efisiensi obat. Sistem *SR* mengirimkan obat secara langsung ke bagian tubuh yang terinfeksi. Penggunaannya sangat menguntungkan untuk pengobatan penyakit akut dan kronis, termasuk penyakit TBC. Bentuk sediaan sistem *SR* dirancang agar pelepasan obat dapat berlangsung dalam jangka panjang setelah pemberian dosis tunggal, sehingga frekuensi penggunaannya tidak terlalu sering dan efek toksik yang ditimbulkan selama masa terapi dapat dikurangi. Sistem *SR* melibatkan peranan polimer sebagai media pengiriman obat. Polimer yang banyak digunakan ialah alginat dan kitosan [1].

Alginat merupakan polisakarida yang diperoleh dari alga coklat. Alginat terdiri dari α -L-asam guluronat (G) dan asam β -D-manuronat (M), diatur dalam blok homopolimer dari setiap jenis (MM, GG), dan blok heteropolimer (MG). Alginat merupakan salah satu polimer alam yang murah dan bersifat *biodegradable*, *biocompatible*, dan nontoksik, sehingga sering digunakan [2] dan tidak merusak bahan yang disalutnya [3]. Alginat juga dikenal bersifat bioadhesif, tetapi potensi bioadhesif alginat kurang sesuai untuk bersentuhan dengan permukaan mukosa usus dalam pengiriman obat oral, sehingga penyerapan obat kurang maksimal [4]. Oleh karena itu, alginat perlu dimodifikasi dengan penambahan agen pengikat silang, atau dikombinasi dengan polimer lain.

Penambahan agen pengikat silang yang sering digunakan, yaitu glutaraldehid, TPP, atau ion divalen, seperti Ca^{2+} . Alginat dapat membentuk gel dengan kation divalen, seperti Ca^{2+} . Gelasi alginat disebabkan oleh pembentukan ikatan *egg-box* dari gabungan ion logam divalen dengan blok GC dalam rantai polimer alginat [5]. Alginat dapat juga dikombinasi dengan polikation, seperti kitosan yang telah sering digunakan karena

aman dan bersifat mukoadhesif [6], sehingga kapsul akan bertahan lebih lama dalam usus dan absorpsi zat aktif obat menjadi meningkat [3]. Karakteristik kitosan yang hidrofobik dan kationik menjadikan kitosan memiliki kemampuan untuk membentuk gel pada saat berinteraksi dengan anion. Gugus amino kitosan mampu berinteraksi dengan polimer anionik yang memiliki gugus karboksilat, seperti karboksimetilselulosa, atau alginat [6]. Kompleks alginat dan kitosan dapat berperan penting dalam sistem pengiriman obat oral dengan sifatnya yang *biocompatible*, sehingga akan menguntungkan karena obat tersebut diharapkan dapat terabsorpsi secara utuh dalam saluran pencernaan melalui pemberian obat secara oral [7]. Selain karena sifatnya yang *biocompatible*, *biodegradable*, dan nontoksik, kitosan-alginat dipilih sebagai media pengiriman obat karena sifatnya yang *bioavailable*, sehingga dapat memerangkap obat lebih efisien. Penyalutan ganda alginat dan kitosan lebih dipilih karena dapat mengurangi porositas dan meningkatkan kestabilan kapsul [3].

Namun, karena kitosan dan alginat sulit bercampur, maka perlu digunakan surfaktan sebagai *emulsifier* untuk menyatukan kitosan dan alginat [8]. Surfaktan yang biasa digunakan, yaitu span 80 dan tween 80 yang bersifat nontoksik. Obat ketoprofen yang disalut dengan kitosan-alginat dengan konsentrasi tween 80 2% menunjukkan hasil optimum pada pelepasan obat dengan medium basa [2]. Peningkatan konsentrasi tween 80 juga menyebabkan peningkatan ukuran partikel (100-1000 nm) dan efisiensi enkapsulasi sebagai akibat terjadinya penurunan tegangan permukaan [9].

Beberapa obat utama TBC yang biasa dikonsumsi oleh penderita, yaitu rifamisin, isoniazid, pirazinamid, dan etambutol, tetapi hanya pirazinamid yang dapat bekerja pada populasi bakteri menetap, seperti *mycobacterium tuberculosis* [10]. Pirazinamid juga merupakan obat TBC yang bersifat bakteriostatik. Namun, karena ukuran

obat yang terlalu besar membuat obat pirazinamid terlalu sulit untuk ditelan oleh penderita TBC. Waktu paruh biologis obat pirazinamid yang relatif pendek, mengharuskan obat pirazinamid dikonsumsi sehari sekali dalam pengobatan tuberkulosis dalam jangka waktu enam bulan dan memungkinkan efek toksik bagi tubuh semakin banyak, sehingga adanya bentuk sediaan lepas terkendali akan jelas menguntungkan karena dapat memperpanjang waktu paruh obat [1].

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, pipet tetes, corong pisah, gelas kimia, labu ukur, alu, cawan porselen, *magnetic stirrer*, kertas saring, dan pH meter. Instrumen yang digunakan adalah *FTIR*, *UV-Vis*, dan *PSA*.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kitosan, alginat, pirazinamid, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,15 M, tween 80, akuades, kalium dihidrogenfosfat, NaOH .

PROSEDUR PENELITIAN

a. Enkapsulasi Pirazinamid

Sebanyak enam gram pirazinamid ditimbang menggunakan neraca analitik dan dimasukkan ke dalam gelas kimia. Kemudian, ditambahkan 12 mL larutan alginat 2% (b/v). campuran tersebut diaduk dengan *magnetic stirrer* sampai homogen. Setelah itu, campuran diteteskan ke dalam larutan CaCl_2 0,15 M menggunakan pipet tetes dan terbentuk butiran. Butiran tersebut didiamkan selama 10 menit, lalu disaring dan dicuci dengan akuades sampai pH-nya netral dan bebas ion Cl^- . Butiran didiamkan selama 30 menit. Kemudian, butiran direndam dalam larutan tween 80 dengan berbagai konsentrasi (0, 1%, 2%, 3%, dan 4%) dan didiamkan selama 10 menit. Butiran disaring dan direndam dalam larutan kitosan 1%. Setelah itu, dibiarkan selama 10 menit, lalu disaring dan dikeringkan dalam suhu ruang.

b. Uji Efisiensi Enkapsulasi

Sebanyak 10 mg pirazinamid terenapsulasi alginat-kitosan dilarutkan ke dalam 10 mL buffer fosfat pH 6,8. Campuran tersebut dilarutkan dengan *magnetic stirrer* pada suhu ruang sampai homogen. Larutan dianalisis dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 268 nm [1]. Absorbansi yang terbaca digunakan untuk menentukan konsentrasi pirazinamid terenapsulasi. Partikel tanpa pirazinamid dijadikan sebagai larutan blanko. Semua sampel direplikasi tiga kali. Kemudian, hasilnya dihitung menggunakan rumus:

% efisiensi enkapsulasi =

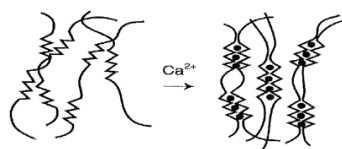
$$\frac{\text{massa pirazinamid yang terenapsulasi}}{\text{massa total pirazinamid sebelum enkapsulasi}} \times 100$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada bab ini akan dibahas beberapa hal, yaitu enkapsulasi pirazinamid menggunakan alginat-kitosan dengan penambahan tween 80 dengan berbagai variasi konsentrasi, yaitu 0, 1%, 2%, 3%, dan 4%. Selanjutnya, kapsul tersebut diuji efisiensi enkapsulasi. Data hasil uji efisiensi tertinggi diuji menggunakan instrumen *FTIR* dan *PSA*. Berikut penjelasannya:

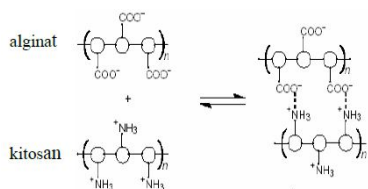
1. Enkapsulasi Pirazinamid

Pertama, pirazinamid ditumbuk halus hingga membentuk serbuk, kemudian dicampurkan dengan larutan alginat 2% (b/v) menggunakan *magnetic stirrer* sampai homogen. Setelah itu, campuran tersebut diteteskan ke dalam larutan CaCl_2 0,15 M dan terbentuk butiran yang masih berbentuk gel. Larutan CaCl_2 tersebut berfungsi sebagai agen pengikat silang dan juga untuk repolimerisasi asam guluronat dan asam manuronat yang terdapat pada alginat. Alginat yang semula berupa garam Na-alginat dengan ion Na sebagai pengikat silang antara gugus asam manuronat dan asam guluronat ini terputus saat alginat dilarutkan dalam akuades. Pada saat penetesan ke dalam larutan CaCl_2 ini, polimer tersebut dapat berikatan lagi, yaitu ditandai dengan terbentuknya butiran yang masih berbentuk gel. Reaksi Ca-alginat digambarkan sebagai berikut:



Gambar 1. Reaksi Ca-alginat [9]

Butiran yang terbentuk tersebut didiamkan selama 10 menit agar butiran tadi menjadi lebih keras [3]. Butiran disaring dan dicuci dengan akuades untuk menghilangkan ion Cl^- . Untuk mengetahui ion Cl^- telah benar-benar hilang, maka air bilasan diuji dengan larutan AgNO_3 0,1 M. Apabila dalam larutan tersebut masih terkandung ion Cl^- , maka akan terbentuk suatu endapan putih yang menandakan adanya AgCl , sehingga butiran harus dicuci lagi sampai endapan putih tidak terbentuk. Selanjutnya, butiran didiamkan dalam suhu ruang selama 30 menit. Butiran direndam dalam larutan tween 80 dengan variasi konsentrasi 0, 1%, 2%, 3%, dan 4% (v/v). Penambahan tween 80 ini bertujuan untuk mengurangi terjadinya aglomerasi alginat-kitosan dan untuk mempertahankan ukuran butiran yang biasanya menjadi lebih kecil setelah direndam dalam kitosan dan dikeringkan pada suhu ruang. Perendaman dilakukan selama 10 menit dengan maksud seluruh bagian kapsul alginat dapat tersalut dengan tween 80. Setelah itu, butiran disaring dan didiamkan dalam suhu ruang selama 10 menit dan direndam dalam larutan kitosan 0,1% (b/v) selama 10 menit. Kemudian, butiran disaring dan dikeringkan dalam suhu ruang. Reaksi alginat-kitosan ditunjukkan pada Gambar 2 berikut:



Gambar 2. Reaksi Pembentukan Kompleks Polielektrolit alginat-kitosan [2]

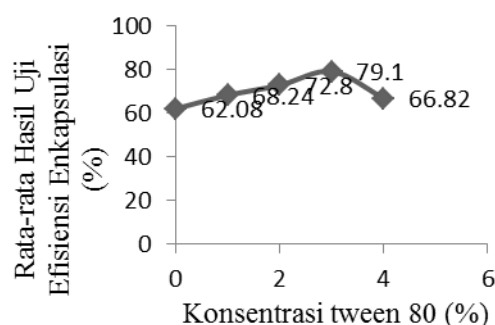
2. Uji Efisiensi Enkapsulasi

Butiran-butiran yang sudah kering tersebut diuji efisiensi enkapsulasi. Uji efisiensi enkapsulasi ini dilakukan untuk

mengetahui kadar pirazinamid yang terjerat dalam alginat-kitosan. Hasil uji efisiensi enkapsulasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh Konsentrasi Tween 80 terhadap Efisiensi Enkapsulasi

No.	Konsentrasi Penambahan Tween 80 (%)	Hasil Uji Efisiensi Enkapsulasi (%)
1.	0	A 62,23
		B 62,85
		C 61,16
		Rata-rata 62,08
2.	1	A 67,47
		B 69,15
		C 68,10
		Rata-rata 68,24
3.	2	A 73
		B 72,35
		C 73,05
		Rata-rata 72,8
4.	3	A 78,85
		B 79,35
		C 79,10
		Rata-rata 79,10
5.	4	A 67,10
		B 66,95
		C 66,40
		Rata-rata 66,82



Gambar 3. Grafik Hasil Uji Efisiensi Enkapsulasi

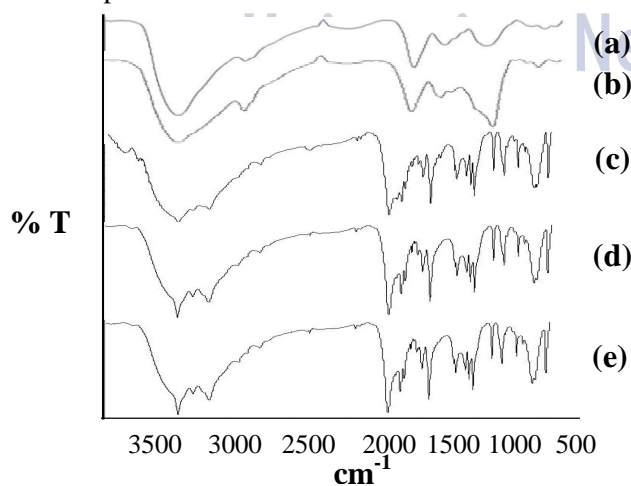
Berdasarkan Tabel 1 dan Gambar 3, terlihat bahwa persentase efisiensi enkapsulasi meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi surfaktan. Namun, mulai konsentrasi 4% terjadi penurunan. Hal ini disebabkan konsentrasi tween 80 tersebut berada di atas CMC (*Critical Micell*

Concentration). Saat konsentrasi surfaktan berada di bawah CMC, surfaktan dapat menurunkan tegangan permukaan karena misel belum terbentuk, sehingga kestabilan internal tetesan menjadi lebih baik dan dapat mempercepat sistem dispersi mikrokapsul [8]. Selain itu, surfaktan juga dapat membuat lapisan yang baik di sekeliling permukaan kapsul, sehingga aglomerasi alginat-kitosan dapat berkurang dan karenanya efisiensi cenderung meningkat, sedangkan saat di atas CMC, surfaktan tidak lagi mampu membuat lapisan di sekeliling permukaan kapsul, sehingga kemungkinan aglomerasi alginat-kitosan dapat terbentuk. Hasil efisiensi enkapsulasi ini berbeda dengan hasil yang diperoleh pada penelitian Wukirsari yang rata-rata >86% [3]. Hal ini kemungkinan disebabkan perbandingan massa obat dan volume alginat yang digunakan, serta adanya penambahan tween 80. Namun, jika dibandingkan dengan hasil efisiensi enkapsulasi yang diperoleh pada penelitian Sugita jauh lebih baik, meskipun sama-sama diperoleh hasil efisiensi enkapsulasi yang paling optimum pada konsentrasi tween 3% [11].

3. Karakterisasi

a. Karakter Kimia

Karakter kimia diperlihatkan dari hasil uji FTIR untuk pirazinamid, alginat-kitosan-pirazinamid, dan alginat-kitosan-pirazinamid-tween 80 yang ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. (a) Spektrum kitosan, (b) spektrum

alginat, (c) spektrum pirazinamid, (d) spektrum alginat-kitosan-pirazinamid, (e) spektrum alginat-kitosan-pirazinamid-tween 80.

Spektrum kitosan dan alginat memiliki spektrum yang hampir sama, yaitu adanya puncak landai dan melebar di daerah bilangan gelombang 3500 cm^{-1} yang menunjukkan gugus OH, 1700 cm^{-1} yang merupakan daerah serapan asam karboksilat. Pada spektrum pirazinamid terdapat puncak tajam di daerah bilangan gelombang 3413 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus N-H amina. Kemudian, ada puncak landai di daerah bilangan gelombang 3292 cm^{-1} yang menunjukkan daerah serapan amida. Pirazinamid juga memiliki gugus C=O keton yang ditunjukkan dengan adanya serapan di daerah bilangan gelombang $1715,87\text{ cm}^{-1}$ dan C=C aromatis dengan serapan pada bilangan gelombang 1600 cm^{-1} .

Pada spektrum alginat-kitosan-pirazinamid dan alginat-kitosan-pirazinamid-tween 80 tidak terjadi perbedaan yang signifikan dengan spektrum pirazinamid, tetapi ada beberapa puncak yang mengalami pergeseran, seperti pada puncak pirazinamid 3413 cm^{-1} yang bergeser menjadi 3414 cm^{-1} dan puncak menjadi lebih tajam pada spektrum alginat-kitosan-pirazinamid, baik dengan penambahan tween, maupun tanpa penambahan tween 80. Pergeseran ini kemungkinan disebabkan ikatan ion kalsium dengan alginat. Pada puncak di daerah bilangan gelombang 2360 cm^{-1} juga mengalami pergeseran ke daerah bilangan gelombang 2346 cm^{-1} . Puncak landai di daerah bilangan gelombang 3166 cm^{-1} juga mengalami pergeseran yang berbeda pada spektrum alginat-kitosan-pirazinamid, puncak bergeser ke daerah bilangan gelombang 3164 cm^{-1} , sedangkan pada spektrum dengan penambahan tween 80, puncak bergeser ke daerah bilangan gelombang 3163 cm^{-1} . Puncak tajam pada daerah bilangan gelombang 3413 cm^{-1} mengalami pergeseran ke daerah bilangan gelombang 3414 cm^{-1} pada spektrum alginat-

kitosan, baik dengan, maupun tanpa penambahan tween 80. Selain, terjadi pergeseran juga ada beberapa puncak yang hilang, seperti puncak di daerah bilangan gelombang 1943 cm^{-1} pada spektrum pirazinamid, sedangkan pada spektrum alginat-kitosan, baik dengan, maupun tanpa tween, puncak tersebut tidak terlihat. Hal ini kemungkinan disebabkan terjadinya interaksi antara alginat dengan kitosan yang berinteraksi secara elektrostatis dimana gugus karboksil dari alginat berikatan dengan gugus amino kitosan membentuk kompleks polielektrolit, atau *Polyelectrolyte complex* (PEC) [9].

Perubahan yang tidak signifikan antara spektrum pirazinamid, alginat-kitosan-pirazinamid, baik dengan, maupun tanpa penambahan tween menunjukkan bahwa alginat-kitosan, baik dengan penambahan tween 80, maupun yang tidak ada penambahan tween 80 tidak berinteraksi secara kimia dengan pirazinamid, melainkan hanya menjerat pirazinamid saja. Tween 80 juga tidak berinteraksi secara kimia dengan alginat-kitosan, maupun dengan pirazinamid, sehingga pada spektrum FTIR nampak ketiga spektrum ini cenderung memiliki kemiripan.

b. Karakter Fisika

Karakter fisika ditunjukkan dari hasil uji penentuan ukuran partikel menunjukkan bahwa pirazinamid yang tersalut alginat-kitosan dengan adanya penambahan tween 80 ukuran pada kisaran nano yang lebih tinggi dibandingkan pirazinamid yang tersalut alginat-kitosan tanpa penambahan tween 80. Data hasil pengukuran partikel dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Penentuan Ukuran Partikel

Formula	Ukuran Partikel (nm)	Persentase (%)
Tanpa tween 80	100-1000	100
Tween 80	100-1000	91,5
3%	10-100	8,5

Berdasarkan data pada Tabel 2, terlihat bahwa dengan adanya penambahan surfaktan tween 80 sudah mencapai partikel berukuran nano, meskipun ukuran mikro lebih tinggi, yaitu mencapai 91,5%. Hal ini disebabkan surfaktan tween 80 merupakan salah satu surfaktan yang dapat berperan untuk menurunkan tegangan permukaan, sehingga luas permukaan menjadi meningkat [9]. Ukuran nanopartikel pada penelitian ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan hasil penelitian Sugita (2010) yang hanya mencapai sekitar 7%, meskipun sama-sama terjadi pada konsentrasi penambahansurfaktan tween 80 3% [11]. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan metode penelitian yang digunakan berbeda. Metode penyalutan ganda memberikan hasil yang lebih optimal pada efisiensi enkapsulasi dan pada pembuatan nanopartikel.

PENUTUP SIMPULAN

Berdasarkan data dapat disimpulkan bahwa:

1. Penambahan surfaktan tween 80 dapat meningkatkan persentase efisiensi enkapsulasi sebesar 79,10% jika berada di bawah CMC, yaitu pada saat konsentrasi tween 80 3%, sedangkan pada saat konsentrasi tween 80 4% terjadi penurunan menjadi 66,82% karena berada di bawah CMC.
2. Karakter fisika dijelaskan dari hasil uji PSA yang menunjukkan bahwa penambahan surfaktan tween 80 dapat meningkatkan ukuran nanopartikel. Dalam penelitian ini beberapa partikel berukuran nano (10-100 nm) sebesar 8,5%, dan sisanya berukuran mikro (100-1000 nm), yaitu sekitar 91,5%. Karakter kimianya dijelaskan dari hasil FTIR yang menunjukkan bahwa penambahan surfaktan tween 80 tidak berinteraksi secara kimia dengan alginat-kitosan, maupun dengan pirazinamid. Alginat-kitosan juga tidak berinteraksi secara kimia dengan pirazinamid.

SARAN

Sebaiknya, penelitian selanjutnya juga melakukan uji disolusi baik secara in vitro, maupun secara in vivo untuk mengetahui laju pelepasan obat.

DAFTAR PUSTAKA

1. P. Sabitha; J. Vijaya Ratna dan K. Ravindra Reddy. 2010. Design and Evaluation of Controlled Release Chitosan-Calcium Alginate Microcapsules of Anti Tubercular Drugs For Oral Use. *Inter J. of ChemTech Research*. 2 (1), 88-98.
2. Dartiawati. 2011. Perilaku Disolusi Nanokapsul Ketoprofen Tersalut Gelkitosan-Alginat Secara In Vitro. *Skripsi*. Bogor: IPB.
3. Wukirsari, Tuti. 2006. Enkapsulasi Ibuprofen dengan Penyalut Alginat-Kitosan. *Skripsi*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
4. Kumar, T. Manoj, Willi Paul, Chandra P. Sharma, dan M. A. Kuriachan. 2005. Bioadhesive, pH Responsive Miromatrix for Oral Delivery of Insulin. *J. Trends Biomater. Artif. Organs*. 18 (2), 198-202.
5. Patil PR, Praveen S, Rani RHS, dan Paradkar AR. 2005. Bioavailability assessment of ketoprofen incorporated in gelled self-emulsifying formulation: A technical note. *AAPS Pharm Sci Tech*. 2. Issue 2, 9-13.
6. Takka, Sevgi dan Aybige Gurel. 2010. Evaluation of Chitosan/Alginate Beads Using Experimental Design: Formulation and In Vitro Characterization. *J. AAPS Pharm Sci Tech*. 11 (1), 460-466.
7. Yan Wu, Wuli Yang, Changchun Wang, Jianhua Hu, dan Shoukuan Fu. 2005. Pharmaceutical Nanotechnology: Chitosan nanoparticles as as a novel delivery system for ammonium glycyrrhizinate. *International Journal of Pharmaceutics*. 295, 235-245.
8. Pachauu, Laldusanga dan Bhaskar Mazumder. 2009. A Study on The Effects of Different Surfactants on Ethylcellulose Microspheres. *International Journal of Pharm Tech Research*. 1 (4), 966-971.
9. Attia Shafie, Mohamed Ali dan Hadeel Hamdy Mohammed Fayek. 2013. Formulation and Evaluation of Betamethasone Sodium Phosphate Loaded Nanoparticles for Ophthalmic Delivery. *J. Clin Exp Ophthalmol*. 4 (2), 1-11.
10. Sarkar, Susmita dan Mavanur R. Suresh. 2011. An Overview of Tuberculosis Chemoterapy-A Literature Review. *J. Pharm Pharmaceut Sci*. 14 (2), 148-161.
11. Sugita, Purwantiningsih, Napthaleni, Mersi Kurniati, dan Tuti Wukirsari. 2010. Diffusion Behavior Of Ketoprofen Through Chitosan-Alginate Membranes. *Indo J. Chem*. 14 (2), 269-275.